[Aus dem Hygienischen Institut der Universität Breslau
(Direktor: Professor Dr. Carl Prausnitz).]

Ueber die Säureagglutination von Influenza-, Keuchhusten- und Koch-Weeks-Bazillen

Inaugural-Dissertation

zur

Erlangung der Doktorwürde in der Medizin und Chirurgie

der

Hohen Medizinischen Fakultät

der

Schlesischen Friedrich Wilhelm-Universität zu Breslau

vorgelegt von

Bernhard Fischer
Medizinalpraktikant

Jena
Gustav Fischer
1928

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41546319_0030

[Aus dem Hygienischen Institut der Universität Breslau
(Direktor: Professor Dr. Carl Prausnitz).]

Ueber die Säureagglutination von Influenza-, Keuchhusten- und Koch-Weeks-Bazillen

Inaugural-Dissertation

zur

Erlangung der Doktorwürde in der Medizin und Chirurgie

der

Hohen Medizinischen Fakultät

der

Schlesischen Friedrich Wilhelm-Universität zu Breslau

vorgelegt von

Bernhard Fischer
Medizinalpraktikant

Jena
Gustav Fischer
1928

Gedruckt mit Genehmigung der Hohen Medizinischen Fakultät der Schlesischen Friedrich Wilhelm-Universität zu Breslau.

Referent: Prof. Prausnitz

R. UNIV.
BIBLIOTHEEK
LEIDEN

Abdruck aus dem
Centralblatt f. Bakteriologie, Parasitenkunde u. Infektionskrankheiten.
I. Abteilung. Originale.
Herausgeg. von Prof. Dr. **O. Uhlworm** in Bamberg, Präsident Dr. **A. Weber** in Dresden und Prof. Dr. **E. Gildemeister** in Berlin. — Verlag von **Gustav Fischer** in **Jena.**
106. Bd. 1928.

Michaelis hatte bei seinen Untersuchungen über die Eiweißkoagulation gefunden, daß alle amphoteren Substanzen bei einer bestimmten Wasserstoffionenkonzentration (p_H) am unlöslichsten sind. Diese p_H hat für jeden amphoteren Körper eine ganz bestimmte Größe. Die positiven und negativen elektrischen Ladungen des betreffenden Stoffes halten sich hierbei die Wage. Diesen Punkt, bei dem keinerlei Ladung vorhanden ist, bezeichnet man als isoelektrischen. Alle eiweißartigen Körper sind nun amphotere Stoffe, die ihr Fällungsoptimum bei einer ganz bestimmten p_H haben. Neißer, Friedemann und Bechhold, die die physikalisch-chemischen Vorgänge bei der Agglutination untersuchten, kamen zu dem Ergebnis, daß dieselben Elektrolyte, die die Fällung kolloidaler Suspensionen hervorrufen, auch die Agglutination der Bakterien herbeiführen. Die Agglutination der Bakterien ist also abhängig von den in ihnen enthaltenen Eiweißsubstanzen. Die Bakteriensuspension besitzt die Eigenschaft einer komplizierten Kolloidsuspension. Den verschiedenen Fällungsfaktoren und besonders den Säuren gegenüber verhalten sich die Bakterien ebenso wie die elektronegativen Suspensionskolloide (Friedemann, Neißer). Der Zusatz

von Säure in bestimmter Konzentration zur Bakterienemulsion führt zur Agglutination der Bakterien.

Michaelis benutzte nun diese Tatsache und prüfte mit seinem Schüler Benjasch zusammen die Säureflockbarkeit bei zahlreichen Bakterienarten. Nach ihnen tritt die Säureagglutination für jede Bakterienart innerhalb eines bestimmten Bereiches der p_H ein, wobei das p_H-Optimum für eine jede Bakterienart eine konstante Größe darstellt. Ihrer Ansicht nach konnte diese Methode daher zur Differentialdiagnose herangezogen werden und zwar besonders bei den zur Typhus-Coli-Gruppe gehörenden Bakterienarten. Hier gelang es, nicht nur verschiedene zu der genannten Gruppe gehörende Bakterienarten, sondern auch verschiedene Untergruppen ein und derselben Art zu unterscheiden. Die „optimale Agglutination ist demnach ein neues Kennzeichen zur Charakterisierung und Differenzierung der Mikroben".

Für Typhusbazillen fand Michaelis das Optimum bei $p_H = 4 \cdot 10^{-5}$. Dieses Optimum blieb stets dasselbe und kam bei keiner anderen Bakterienart vor. Paratyphusbazillen hatten ihr Optimum bei $p_H = 16 \cdot 10^{-5}$ bis $32 \cdot 10^{-5}$. Einen Unterschied zwischen Paratyphus A und B konnte Michaelis nicht feststellen. Das Optimum von Bac. enteritidis Gärtner erstreckte sich von $p_H = 3 \cdot 10^{-4}$ bis $2{,}5 \cdot 10^{-3}$. Bei Cholera- und choleraähnlichen Vibrionen fand Benjasch kein scharf begrenztes Optimum. Es schwankte zwischen $p_H = 2{,}76 \cdot 10^{-4}$ und $2{,}2 \cdot 10^{-3}$. Bact. coli und die Ruhrbazillen waren durch Säure nicht fällbar. Erst nach Zusatz eines Eiweißkörpers, z. B. Blutserum, gelang es Michaelis, eine Ausflockung bei Coli zu erzielen, was Eisenberg bestätigen konnte. Die Agglutinationsbreite und das Optimum war je nach der Menge des zugesetzten Eiweißes verschieden. Michaelis erklärte sich den Vorgang dadurch, daß es zur Ausflockung von zwei entgegengesetzt geladenen Kolloiden kommt. Coli-Bazillen enthalten ein durch Säure nicht flockbares Kolloid. Bringt man aber einen Eiweißkörper hinzu, so tritt bei geeigneter Wasserstoffionenkonzentration eine Agglutination ein. Bei Ruhrstämmen kam es auch nach Eiweißzusatz zu keiner deutlichen Ausflockung. Säureagglutination in Gegenwart von Eiweiß bzw. ihr Fehlen erscheint demnach als ein Artmerkmal der betreffenden Bakterienart.

Aufkochen der Aufschwemmungen blieb bei einem Teil der Bakterien ohne Einfluß auf die Säureagglutination, bei dem anderen (Vibrionen) trat die Agglutination bei $p_H = 3{,}5 \cdot 10^{-5}$ bis $5.5 \cdot 10^{-4}$ ein. Durch Erhitzen von Typhusbakterien auf 60—80° wurde die Säureflockbarkeit herabgesetzt, durch Erhitzen auf 100° nahm sie wieder zu. Auf 100° erhitzte Coli-Kultur war durch Säure fällbar. Die gekochten Kulturen von Dysenterie- und Coli-Bakterien zeigten der Säureeinwirkung gegenüber ein gleiches Verhalten. Die Kulturen aller Arten von Bakterien der Coli-Gruppe hatten nach dem Erhitzen auf 100° dasselbe Optimum und dieselbe Agglutinationszone.

Ueber die praktische Verwertbarkeit dieser Methode, insbesondere zur Diagnose des Typhus, wurden zahlreiche Untersuchungen angestellt. Schidorsky und Reim konnten die Befunde von Michaelis und Benjasch besonders hinsichtlich der Typhus- und Paratyphusbazillen bestätigen. Sie stellten nun Untersuchungen darüber an, ob es möglich ist, die Säureagglutination bei Stuhluntersuchungen zu verwenden. Sie prüften die Säureagglutination an Emulsionen des Rasens von Originalplatten des Stuhls und fanden, daß normale Stühle keine Agglutination ergaben, während Stühle, in denen mit der üblichen bakteriologischen Methode Typhusbazillen nachgewiesen wurden, eine Ausflockung bei $p_H = 4 \cdot 10^{-5}$ zeigten, was für Typhusbazillen charakteristisch ist.

Rost und Grote wandten ebenfalls die Säureagglutination bei Mischkulturen an. Sie brachten Gemische von Coli- und Typhusbazillen, Coli- und Paratyphusbazillen und Coli- und Dysenteriebazillen auf Agarplatten und Endo- und Drigalski-Nährböden, stellten sich Abschwemmungen von diesen Platten her und fanden, daß in allen Fällen bei Typhus die Agglutination bei p_H $4 \cdot 10^{-5}$ eintrat. Ferner nahmen sie mit dieser Methode auch Stuhluntersuchungen vor, besonders bei Kolonien, die zwar verdächtig, aber in ihrem Wachstum auf der Kultur atypisch waren. Trat Agglutination ein, so ergab auch das Kulturverfahren Typhus, blieb sie aus, so handelte es sich meist um Coli-Bazillen. Da aber im Stuhl noch andere Bakterien, z. B. proteusähnliche, vorkommen können, die ein den Typhusbazillen ähnliches Optimum aufweisen, ist, wie Grote mit Recht betont, die Säureagglutination an Bakteriengemischen ein durchaus unsicheres Verfahren, das mit den exakten Methoden der Isolierung von Reinkulturen und ihrer Identifizierung nicht in Konkurrenz treten kann. Zur Identifizierung von Reinkulturen jedoch hielt auch Grote die Säureagglutination für brauchbar.

Weitere Untersuchungen wurden von Beintker, Poppe, Stepanoff-Grigorjeff und Nagel gemacht, die im allgemeinen die früheren Befunde bestätigen konnten.

Die Identifizierung von Reinkulturen der Menschenpest gelang Stepanoff-Grigorjeff und Markl mit Hilfe der Säureagglutination, da Pest ein wohlumschriebenes Optimum von $p_H = 4 \cdot 10^{-5}$ bis $6 \cdot 10^{-5}$ aufwies.

Abweichungen, die von den bisherigen Resultaten gefunden wurden (Jaffe, Sgalitzer), suchte Grote dadurch zu erklären, daß wahrscheinlich die Agglutination abhängig ist von Stoffen im Bakterienprotoplasma, die während des Lebens vielleicht schon innerhalb einer Generation wechseln. Die Säureflockung wäre danach unter Umständen ein Mittel, um Schwankungen in der Zusammensetzung des Protoplasmas anzuzeigen, die sonst nicht nachweisbar sind. Es würde sich also bei der Säureflockung nicht wie bei der Serumagglutination um eine Artdiagnose handeln, sondern um eine Zustandsdiagnose des Protoplasmas. Eisenberg, Sgalitzer, Putter und Zorn führten Abweichungen von der Norm auch auf besondere Nährbodenzusammensetzungen und Züchtungsbedingungen zurück. So wies z. B. Sgalitzer nach, daß in Nährlösung gewachsene Bakterien bei geringerer Säurekonzentration ausflocken als dieselben Bakterien von festen Nährböden.

Trotz dieser vorkommenden Abweichungen hielt Michaelis die Säureagglutination hinsichtlich der Typhusbazillen nächst der spezifischen Serumagglutination für dasjenige Merkmal des Typhusbazillus, das am meisetn konstant und eindeutig ist. Sie tritt im Röhrchen mit $p_H = 4 \cdot 10^{-5}$ mit großer, wenn auch nicht absoluter Regelmäßigkeit ein. Gegen die Eindeutigkeit läßt sich nur anführen, daß in ganz seltenen Ausnahmefällen auch Coli-Bazillen das gleiche Säureagglutinationsoptimum zeigen wie Typhusbazillen. Eisenberg, der über den Mechanismus und die chemische Agglutination zahlreiche Versuche angestellt hat, kam abweichend von Michaelis auf Grund seiner umfangreichen Untersuchungen zu folgendem Ergebnis: Der für die einzelnen Arten dieser Gruppe als charakteristisch angegebene Reaktionstyp kommt nicht ausschließlich bei der betreffenden Art vor, sondern ist auch bei anderen Arten zu finden. Bei einer und derselben Art können verschiedene Reaktionstypen vorkommen. Nach seiner Ansicht ist daher die Säureagglutination keine genügend konstante und spezifische Reaktion, um mit ihr allein eine sichere Diagnose verdächtiger Stämme stellen zu können.

Neuwirth konnte mit der einfachen Säureagglutination die einzelnen Glieder der Paratyphus-Coli-Gruppe nicht eindeutig bestimmen. Von Coli-Stämmen waren 81 Proz. säureagglutinabel, jedoch war das Optimum großen Schwankungen unterworfen. Auch Sartorius fand agglutinable und inagglutinable Coli-Gruppen. Die Agglutinierbarkeit der Coli-Stämme nahm bei längerer Fortzüchtung zu. Da Sgalitzer auf den Einfluß der Zusammensetzung des Nährbodens auf den Ausfall der Säureagglutination hingewiesen hatte, prüfte Sartorius die Wirkung physiologischen Milieus (besonders des Stuhls) auf die Agglutination. Die Züchtung älterer Stämme in steriler Stuhlbouillon Erwachsener oder Kinder hatte verschiedene Wirkung. Durch Kinderstuhlpassage wurde die Agglutination fast immer verstärkt, durch Erwachsenenstühle trat eine wechselnde Beeinflussung ein.

In neuerer Zeit wurden von Bach, Bien, Putter und Zorn Säureagglutinationsversuche mit den Weil-Felixschen X-Stämmen angestellt. Bien fand das Agglutinationsoptimum bei einer $p_H = 3$. Die O-Form war jedoch durch Säure nicht fällbar. Putter und Zorn fanden für die H- und O-Form verschiedene Agglutinationsoptima und Flockungsbilder. Wie bei der Immunserumagglutination ist nach ihnen das Flockungsbild der H-Form grob, locker und wolkig, das der O-Form fein, fest und körnig. Durch Erhitzen und verschiedene Zusammensetzung des Nährbodens konnten aber auch sie eine Veränderung der Agglutinabilität und des Flockungstyps hervorrufen.

Zwischen der Säureagglutination und der spezifischen Immunserumagglutination bestehen ausgesprochene qualitative Unterschiede. Zwar haben beide Prozesse die (wohl elektrisch bedingte) Ausflockung gemein (Gieszczykiewicz), auch sind Stämme, die mit Immunserum schlecht agglutiniert werden, ebenso durch Säuren schwer ausflockbar (Michaelis; Schidorsky und Reim). Aber die Flockenbildung ist bei der Säureagglutination eine größere und lockere; durch Schütteln kann man sie leicht zerstören und wieder homogenisieren. Bei der spezifischen Agglutination bleiben die Bakterien am Leben, während sie durch die bei der Säureagglutination verwendeten Säuren rasch getötet werden (Benjasch). Kochsalz ist für die spezifische Agglutination unentbehrlich, für Säureagglutination hemmend.

Gieszczykiewicz untersuchte auch die Frage, was geschieht, wenn man Bakterienaufschwemmungen gleichzeitig oder nacheinander der Serum- und Säurewirkung aussetzt. Bei Zusatz von Normalserum in größeren Konzentrationen bemerkte er eine hemmende Wirkung auf die Säureausflockung. Immunserum dagegen bewirkte eine stärkere Agglutination mit Verschiebung des Optimums nach der alkalischen Seite. Dieselbe Beobachtung konnte auch Eisenberg machen. Krumwiede und Pratt fanden, daß sensibilisierte Typhusbazillen bereits bei geringerer Azidität ausflocken als nicht vorbehandelte und daß bei jenen eine Erweiterung der Agglutinationsskala sowohl nach der sauren wie der alkalischen Seite eintritt. Normalserum zeigt mitunter die gleiche Wirkung in Verdünnungen 1:1000, in anderen Fällen hemmt es die Säureagglutination. Nach Gieszczykiewicz ist es vielleicht möglich, Bakterien, die eine gleichartige Säure- oder Serumagglutination besitzen, mit Hilfe der Säure-Serumagglutination zu differenzieren. Sgalitzer benutzte bei der Agglutination sensibilisierter

Bakterien Salzsäure und kam zu dem Resultat, daß eine deutlichere Agglutination und Verbreiterung der Agglutinationszone nach der Säureseite eintritt. Aus diesen Versuchen geht also hervor, daß sich spezifische und künstliche Agglutination in ihrer Wirkung gegenseitig unterstützen können.

Ist nun das bei der Säureagglutination in Betracht kommende Substrat mit dem der Serumagglutination identisch? Wie schon erwähnt, fanden Michaelis, Benjasch, Sgalitzer und Gieszczykiewicz einen quantitativen Parallelismus zwischen Serum- und Säureflockbarkeit. Nach Sgalitzer wiesen Serum- und Säureflockung erhitzter Typhusbazillen weitgehende Analogien untereinander auf. Dagegen fand Eisenberg nicht immer einen Parallelismus zwischen diesen beiden Agglutinationen. Besonders bei der Beeinflussung der Flockbarkeit durch verschiedene Mittel (Erhitzen, Laugen) konnte er einen solchen nicht feststellen, weshalb er zu der Ueberzeugung kam, daß das Substrat der Säureagglutination kaum ganz identisch ist mit dem der Serumagglutination. Bei der letzteren bildet sich ein Kolloidkomplex, der aus Bakteriensubstanz + Serumsubstanz besteht, bei der ersteren dagegen besteht der Komplex lediglich aus Bakteriensubstanz.

Eigene Untersuchungen.

Auf Anregung von Herrn Professor Prausnitz habe ich Versuche darüber unternommen, ob es möglich ist, Influenza-, Keuchhusten- und Koch-Weeks-Bazillen durch Säure auszuflocken und sie mit Hilfe dieser Methode zu differenzieren. Benjasch hatte bereits im Jahre 1911 die Säureagglutination der Influenza- (1 Stamm) und Keuchhustenbazillen (3 Stämme) geprüft. Influenzabazillen waren nicht ausflockbar, während Keuchhustenbazillen bei verschiedenen H-Ionenkonzentrationen einen gleichen Agglutinationsgrad aufwiesen.

Technik.

Für meine Versuche benutzte ich normale und dezinormale Milch- und Essigsäure und stellte mir entsprechend den Versuchsreihen von Michaelis eine Reihe von Gemischen von verschiedenen H-Ionenkonzentrationen her, indem ich zu den gleichen Mengen (0,5 ccm) dezinormalen Natriumlaktats oder -azetats verschiedene Mengen der Säurelösungen zusetzte. Nach Benjasch haben nämlich die Salze einen Einfluß auf die Koagulation; je höher die Konzentration ist, desto geringer ist die Koagulation; daher empfiehlt es sich, den Salzzusatz konstant zu halten und nur die Säuremengen zu variieren. Ich erhielt dadurch 12 Gemische verschiedener H-Ionenkonzentration. Um in jedem Röhrchen das gleiche Volumen zu erhalten, was zur Erzielung vergleichbarer Bilder zweckmäßig ist, füllte ich jedes Röhrchen mit Aqua destillata auf 2,1 ccm auf und setzte dann 1,0 ccm Kulturaufschwemmung hinzu, so daß jedes Röhrchen 3,1 ccm Flüssigkeit enthielt. Außer diesen Salz-Säuregemischen setzte ich noch ein Kontrollröhrchen an mit 2,1 ccm Aqua destillata und 1,0 ccm Kulturaufschwemmung. Näheres über die Mengenverhältnisse ist aus der beigefügten Tabelle zu ersehen. Die p_H berechnet man nach der Formel

$$p_H = k \cdot \frac{\text{Milchsäure}}{\text{Milchs. Na}} \quad \text{bzw.} \quad k \cdot \frac{\text{Essigsäure}}{\text{Essigs. Na}}$$

K ist eine Konstante und beträgt für Milchsäure $1{,}4 \cdot 10^{-4}$ und für Essigsäure $1{,}8 \cdot 10^{-5}$.

Die Kulturaufschwemmung wurde in folgender Weise hergestellt: Ich nahm von einer 24stünd. Levinthal-Agarkultur 3 Normalösen und verrieb sie in einem Reagenzröhrchen mit 25 ccm Aqua destillata. Von dieser Aufschwemmung wurde je 1,0 ccm zu den Salz-Säuregemischen hinzugefügt; die Röhrchen blieben danach bei Zimmertemperatur stehen; die 1. Ablesung erfolgte nach etwa ½ Std., die endgültige nach 24 Std. Die verschiedenen Grade der Ausflockung wurden durch folgende Zeichen angegeben: 0 = keine Agglutination, + = schwache, nur mit der Lupe oder dem Agglutinoskop sichtbare, ++ = stärkere, bereits makroskopisch sichtbare Agglutination, +++ = Optimum der Aggluti-

nation, vollständige Klärung der überstehenden Flüssigkeit. Bei folgenden Stämmen prüfte ich die Säureagglutination: 13 Influenza-, 4 Koch-Weeks-, 2 Pertussis-Bazillen, 1 Bac. haemoglobinophilus canis, 1 Bac. Cohen. Die ältesten Influenzastämme (1085, B. P. IV, H 1, H 6) waren 8—9 Jahre alt, die jüngsten (1500, 693, 142) 4 Monate. Pertussis I und II stammten aus dem Jahre 1912. B. canis wurde dem Institut von Herrn Dr. Kristensen in Kopenhagen, B. Cohen aus dem Institut Pasteur in Brüssel übersandt; beide Stämme sind seit 1924 in der hiesigen Sammlung.

Ergebnis.

Influenza- und Koch-Weeks-Stämme waren durch Säure ausflockbar, und zwar begann die Agglutination nach 30—45 Min. und war nach ungefähr 12 Std. beendet. Die Agglutination trat nicht in allen Röhrchen zugleich und gleich stark auf, sondern zeigte sich zuerst und am stärksten in den Gemischen, die später auch das Optimum der Agglutination aufwiesen. In den Röhrchen mit dem Agglutinationsoptimum sah man große, lockere, schneeflockenähnliche Gebilde, die sich innerhalb von 24 Std. zu Boden senkten.

Zur Häutchenbildung kam es fast nie. Nur in einem Fall trat eine Häutchenbildung auf, die der bei der spezifischen Agglutination beobachteten ähnlich war. Das ganze Bild der Säureagglutination bot die größte Aehnlichkeit mit den Flocken der typischen H-Agglutination, während bei der Immunserumagglutination dieser Bakteriengruppe, entsprechend dem Fehlen des Geißelapparates, das Agglutinat dem O-Typus entspricht.

Beim Optimum der Säureagglutination kam es rasch zu vollkommener Klärung der Flüssigkeit. Durch Schütteln konnte man die Flocken zerstören und — im Gegensatz zu den durch spezifisches Immunserum ausgeflockten Bazillen — fast vollkommen homogenisieren. Nach 1—2stünd. Stehen trat aber wiederum Flockenbildung und Klärung ein, und zwar annähernd, aber meist nicht ganz im gleichen Ausmaße wie vor dem Aufschütteln.

Wie aus der beigefügten Tabelle hervorgeht, war die Agglutinationsbreite bei den einzelnen Influenzastämmen verschieden. Das Optimum, auf das es nach Heimann besonders ankommt, war nicht auf ein Röhrchen beschränkt, sondern erstreckte sich bei einigen Stämmen über 4—5 Röhrchen, bei anderen nur über zwei. Das Optimum der Agglutination reichte also im Durchschnitt von $p_H = 3{,}5 \cdot 10^{-5}$ bis $5{,}5 \cdot 10^{-4}$.

Der Influenzastamm „Modrze", der von Bronchiektasiesputum herrührte, wies eine besonders große Abweichung von dem Verhalten der übrigen Stämme auf. Die Agglutination begann hier erst im 5. Röhrchen und erreichte nur in 2 Röhrchen das Optimum. Der Stamm war vor etwa 1 Jahr aus dem Sputum eines seit ungefähr 20 Jahren bestehenden Falles von Bronchiektasie gezüchtet worden. Leider standen mir keine anderen Bronchiektasiestämme zur Verfügung, um zu prüfen, ob vielleicht die Herkunft der Stämme auf die Agglutinabilität einen Einfluß ausübt.

Bei mehrfacher Wiederholung der Agglutination mit jedem der einzelnen Stämme wurden Schwankungen hinsichtlich der Agglutinationsbreite und des Optimums beobachtet. Diese Schwankungen fanden sich nicht nur bei verschiedenen Stämmen derselben Art, sondern auch bei wiederholt angestellten Reaktionen mit ein und demselben Stamm. Dieselbe Beobachtung machte, wie schon erwähnt, auch Grote. Er erklärte dies durch die Annahme, daß sich im Bakterienprotoplasma Stoffe befänden, die während des Lebens dauernd wechseln, ohne durch kulturelle Methoden beeinflußt zu werden und ohne auch auf irgendeine andere Weise für unsere übrigen Nachweismethoden zunächst in Erscheinung zu treten. „Säureflockung ist ein Mittel, Schwankungen in der Zusammen-

setzung (scil. des Nährbodens oder der Bakteriensubstanz) zu registrieren, die sonst nicht nachweisbar sind." Während die Serumagglutination eine Artdiagnose ist, handelt es sich nach Grote bei der Säureagglutination nicht um eine Artdifferenzierungsdiagnose, sondern um eine Zustandsdiagnose des Protoplasmas. Zeigen zwei Bakterienarten dieselbe Reaktion, so kann man mit ihm annehmen, daß die reagierenden Stoffe in beiden Bakterienarten identisch sind.

Die Koch-Weeks-Stämme erhielten wir durch die Liebenswürdigkeit von Herrn Professor Reiner Müller, Direktor des Hygienischen Instituts in Köln, Herrn Professor Meisner, Direktor der Universitätsaugenklinik in Greifswald (frische Stämme), und der National Collection of Type Cultures, Lister Institute, London (alter Sammlungsstamm), wofür ich auch an dieser Stelle meinen verbindlichsten Dank aussprechen möchte.

Der Kölner und der Londoner Stamm unterschieden sich nicht wesentlich von den Influenzastämmen, so daß also eine Differenzierung der Influenza- und Koch-Weeks-Bazillen mit der Säureagglutination ebensowenig möglich erscheint wie mit der Serumagglutination. Hier ist aber die Frage aufzuwerfen, ob die sogenannten Koch-Weeks-Stämme wirklich als solche anzuerkennen sind. Sie stammen zwar alle aus Fällen akuter Konjunktivitis, aber bekanntlich kann auch der echte Pfeiffersche Bazillus ein ganz ähnliches Krankheitsbild hervorrufen. Andererseits wuchsen alle unsere sogenannten Koch-Weeks-Stämme nur auf Blutagar und Levinthal-Agar, aber nicht auf blutfreiem Aszitesagar, auf welchem typische Koch-Weeks-Bazillen wachsen sollen. Hier wäre eine Nachprüfung an einer größeren Zahl von Epidemiestämmen sehr erwünscht. Eine Ausnahme von diesen 4 Koch-Weeks-Stämmen machte der eine von den beiden Greifswalder Stämmen, der eine bedeutend kleinere Agglutinationsbreite aufwies als die übrigen Stämme. Die Agglutination begann auch hier nach 45 Min. und erstreckte sich vom 6. bis 11. Röhrchen. Das Optimum lag aber auch bei diesem Stamm innerhalb der bei den anderen Stämmen gefundenen p_H-Grenzen.

Da, wie wir von der spezifischen Agglutination her wissen, die Virulenz der Bakterien hinsichtlich ihrer Agglutinabilität eine Rolle spielen kann, lag der Gedanke nahe, die verminderte Ausflockbarkeit des einen Greifswalder Stammes auf eine herabgesetzte Virulenz zurückzuführen. Ich unterzog daher diesen Stamm der Tierpassage, um dadurch eventuell seine Virulenz und Agglutinabilität zu steigern. Zu diesem Zweck entnahm ich einem Kaninchenauge ungefähr 0,5 ccm Glaskörperflüssigkeit und injizierte 0,5 ccm bis 1,0 ccm Aufschwemmung von einer 24stünd. Kultur dieses Stammes. Innerhalb von 12 Std. traten Glaskörpertrübung, Iritis, hintere Synechien und Hypopyon auf. Nach 24 Std. punktierte ich den Glaskörper und strich das Punktat auf einer Blutagarplatte aus. Nach 18—20stünd. Bebrütung war starkes Wachstum einer Reinkultur eingetreten, mit der ich dann die 2. Passage in derselben Weise wiederholte. In den nach Gram gefärbten Ausstrichen des Punktates waren jedesmal massenhaft gramnegative Stäbchen enthalten. Nach der 6. Passage verglich ich die Virulenz der Ausgangskultur mit der der letzten Passagekultur: Einträufelung der Kulturaufschwemmung in das unversehrte Auge normaler Kaninchen war unwirksam. Daher wurde eine Normalöse des Bakterienrasens auf die Conjunctivae palpebrae verimpft und mit einem Glasstab ½ Min. lang sanft eingerieben; in das rechte Auge wurde der Ausgangsstamm, in das linke der Passagestamm verimpft. Am nächsten Tage war zwar an beiden Augen deutliche Injektion und Oedem der Conjunctivae palpebrae und Injektion der Conjunctivae bulbi zu sehen, aber sie war am linken Auge erheblich stärker als am rechten und hielt am linken Auge bis zum 3. Tage vor, während sie am rechten bereits am

Tabelle I.

Nr. des Gemisches	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	C
Milchsaures Na $^1/_{10}$ n	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0
Milchsäure {1—8 $^1/_{10}$ n} {9—12 $^1/_1$ n}	0.01	0.02	0.04	0.06	0.12	0.25	0.5	1.0	0.2	0.4	0.8	1.6	0
H_2O	1.59	1.58	1.56	1.54	1.48	1.35	1.1	0.6	1.4	1.2	0.8	0	2.1
Kultur	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
$\frac{[\text{Milchsäure}]}{[\text{Milchsäure Na}]} =$	$^1/_{50}$	$^1/_{25}$	$^1/_{12}$	$^1/_8$	$^1/_4$	$^1/_2$	$^1/_1$	$^2/_1$	$^4/_1$	$^8/_1$	$^{16}/_1$	$^{32}/_1$	0
$OH = K.\frac{\text{Milchs.}}{\text{Milchs. Na}} =$	$2{,}8 \cdot 10^{-6}$	$5{,}6 \cdot 10^{-6}$	$1{,}1 \cdot 10^{-5}$	$1{,}7 \cdot 10^{-5}$	$3{,}5 \cdot 10^{-5}$	$0{,}7 \cdot 10^{-4}$	$1{,}4 \cdot 10^{-4}$	$2{,}8 \cdot 10^{-4}$	$5{,}5 \cdot 10^{-4}$	$1{,}1 \cdot 10^{-3}$	$2{,}2 \cdot 10^{-3}$	$4{,}4 \cdot 10^{-3}$	0
Influenza: H 1	0	+	+	++	+++	+++	+++	+++	+++	++	+	0	0
„ H 6	0	±	+	+	++	+++	+++	+++	+++	++	++	+	0
„ Liquor I	0	+	+	++	++	++(+)	+++	+++	+++	++	+	±	0
„ 693	0	±	+	+	++(+)	+++	+++	+++	+++	++	+	0	0
„ 1952	+	+	+	++	++	+++	+++	+++	+++	++	+	+	0
„ 142	0	±	+	+	++	+++	+++	+++	++	++	+	0	0
„ BP IV	0	+	+	++	+++	+++	+++	+++	+++	++	+	0	0
„ Modrze	0	0	0	±	+	++	+++	+++	++	++	+	0	0
„ Kanus	+	++	++	++	+++	+++	+++	+++	++	++	±	0	0
„ Kinder-Kl.	0	±	+	+	++	+++	+++	+++	+++	++	++	+	0
„ 1085	0	0	±	+	++	+++	+++	+++	+++	+++	++	+	0
„ 1500	+	++	++(+)	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++	+	0	0
„ Halle	0	±	+	+	++	+++	+++	+++	+++	++	+	±	0
Baz. Cohen	0	±	+	+	++	++	+++	+++	++	++	+	±	0
„ Canis	0	±	±	+	++	+++	+++	+++	+++	++	+	±	0
Augenbaz. Köln	+	+	++	++	+++	+++	+++	+++	+++	++	+	±	0
„ England	+	+	++	++	++	+++	+++	+++	++	++	+	0	0
„ Greifswald I	0	0	0	0	0	+(+)	+++	+++	+++	++	+	0	0
„ Greifswald II	0	0	+	++	++	+++	+++	+++	+++	+++	++	+	0
Pertussis I	0	±	+	+	+	+	+	++	++	+	+	+	0
„ II	0	+	+	+	+	+	+	++	+	+	+	+	0

2. Tage fast abgeklungen war. Man kann also annehmen, daß der Stamm durch die Tierpassage virulenter geworden war. Nach der Passage prüfte ich nochmals die Agglutinabilität dieses Stammes und fand, daß die Agglutinationsbreite zugenommen hatte. Die Agglutination begann bereits im 3. Röhrchen und das Optimum erstreckte sich vom 8. bis 11. Röhrchen.

Bei den Keuchhustenbazillen, von denen mir 2 Stämme zur Verfügung standen, gelang die Säureagglutination, wenngleich sie hier bedeutend schwächer und langsamer auftrat. Die Flockenbildung war nicht so ausgeprägt wie bei Influenza- und Koch-Weeks-Bazillen und zeigte ein mehr kleinflockiges und körniges Aussehen. Eine vollständige Klärung trat in keinem Röhrchen ein. Der Agglutinationsgrad war, wie auch Benjasch gefunden hatte, trotz verschiedener H-Ionenkonzentrationen in allen Röhrchen fast gleich.

Außer mit Milchsäure stellte ich dieselben Versuche mit Essigsäure an und fand, daß der Beginn der Agglutination und das Optimum bei derselben Wasserstoffionenkonzentration lagen wie bei der Milchsäure. Benjasch hatte bereits bei seinen Versuchen mit Typhusbazillen diese Tatsache festgestellt. Er wies darauf hin, daß das Agglutinationsoptimum mit einer ganz bestimmten Säurekonzentration zusammenfällt. Das Optimum hängt also nur von der Wasserstoffionenkonzentration der Lösung, nicht aber von der absoluten Menge und der Natur der Säure ab.

Tabelle II.

Nr. des Gemisches	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
Essigsaures Na $^1/_{10}$ n	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5
Essigsäure {1—8 $^1/_{10}$ n} {9—12 $^1/_1$ n}	0.01	0.02	0.04	0.06	0.12	0.25	0.5	1.0	0.2	0.4	0.8	1.6
H_2O	1.59	1.58	1.56	1.54	1.48	1.35	1.1	0.6	1.4	1.2	0.8	0
Kultur	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
[Essigsäure] / [Essigs. Na] =	$^1/_{50}$	$^1/_{25}$	$^1/_{12}$	$^1/_8$	$^1/_4$	$^1/_2$	$^1/_1$	$^2/_1$	$^4/_1$	$^8/_1$	$^{16}/_1$	$^{32}/_1$
$pH = K.\frac{\text{Essigs.}}{\text{Essigs. Na}} =$	$0{,}4\cdot10^{-6}$	$0{,}7\cdot10^{-6}$	$1{,}5\cdot10^{-6}$	$2{,}2\cdot10^{-6}$	$0{,}5\cdot10^{-5}$	$0{,}9\cdot10^{-5}$	$1{,}8\cdot10^{-5}$	$3{,}6\cdot10^{-5}$	$0{,}7\cdot10^{-4}$	$1{,}4\cdot10^{-4}$	$2{,}9\cdot10^{-4}$	$5{,}8\cdot10^{-4}$
Influenza: H 1	0	0	0	+	++	++	++	+++	+++	+++	+++	+++
„ H 6	0	0	0	0	±	+	+(+)	++	+++	+++	+++	+++
„ Liquor I	0	0	0	0	+	+	+	++	++	+++	+++	+++
„ 693	0	0	0	0	0	+	+	++	+++	+++	+++	++
„ 1952	0	0	0	+	+	+	++	+++	+++	+++	+++	+++
„ 142	0	0	0	0	0	+	++	+++	+++	+++	+++	++
„ BP IV	0	0	0	0	0	+	++	+++	+++	+++	+++	++
„ Modrze	0	0	0	0	0	0	0	+	++	++	+++	+++
„ Kanus	0	0	+	+	+	++	++	+++	+++	+++	+++	++
„ Kinder-Kl.	0	0	0	0	0	0	+	+	+++	+++	+++	+++
„ 1085	0	0	0	0	0	+	++	+++	+++	+++	+++	++
„ 1500	0	0	+	+	+	++	+++	+++	+++	+++	+++	++
„ Halle	0	0	0	0	0	+	+	++	+++	+++	+++	++
Baz. Cohen	0	0	0	0	+	+	++	+++	+++	+++	+++	++
Baz. Canis	0	0	0	0	+	+	+	++	+++	+++	+++	++
Augenbaz. Köln	0	0	+	+	+	++	++	+++	+++	+++	+++	++
„ England	0	0	0	+	+	++	++	+++	+++	+++	++	++
„ Greifswald I	0	0	0	0	0	0		(+)	++	+++	+++	+++
„ Greifswald II	0	0	0	0	0	±	++	++	+++	+++	+++	+++
Pertussis I	0	0	0	0	0	+	+	+	+	++	+	+
Pertussis II	0	0	0	0	0	+	+	+	+	++	+	+

Endlich suchte ich noch folgende Frage zu klären: Sind die Bakterien durch die Säureeinwirkung so weitgehend verändert worden, daß die ausgeflockte Masse, wenn man sie von der Säure befreit und wieder neutralisiert, nicht mehr durch Säure fällbar ist, oder kann man diesen Prozeß erneut hervorrufen? Zu diesem Zweck zentrifugierte ich den Inhalt einiger mit Milchsäure angesetzter Röhrchen, in denen eine maximale Ausflockung eingetreten war, nahm die überstehende Flüssigkeit hinweg, schüttelte das Sediment in physiol. Kochsalzlösung auf, zentrifugierte noch einmal und ersetzte die Kochsalzlösung durch Aqua destillata. Dann setzte ich von dieser, das Zentrifugat enthaltenden Flüssigkeit je 1 ccm den entsprechenden Röhrchen mit Milch- bzw. Essigsäurelösung hinzu. Außerdem fügte ich je 1,0 ccm dieser Flüssigkeit zu je einem Röhrchen mit physiol. Kochsalzlösung und mit Aqua destillata. In den Milch- und Essigsäuregemischen trat wiederum Agglutination in derselben Weise ein wie bei den ersten Versuchen. In den Röhrchen mit Kochsalzlösung und Aqua destillata blieb die Agglutination aus. Die Serumagglutination, die ich mit den bereits durch Säure gefällten und durch Waschen mit physiol. Kochsalzlösung wieder neutralisierten Bakterien anstellte, ergab folgendes: In den Verdünnungen 1:20, 1:40, 1:80 trat eine körnige Ausflockung ein, die aber schwächer war als die Serumagglutination mit den normalen Bakterien. Neutrali-

siert man also bereits mit Säure gefällte Bakterien, so kann man sie sowohl durch Säuren wie durch Immunserum zur Ausflockung bringen. Der Agglutinationsprozeß ist demnach reversibel.

Aus diesen Versuchen geht nun folgendes hervor:

1) Die Influenza-, Keuchhusten- und Koch-Weeks-Bazillen sind durch Säure ausflockbar, während Benjasch bei Influenzabazillen eine Säureflockung nicht hervorrufen konnte.

2) Nicht nur bei verschiedenen Stämmen derselben Art, sondern auch bei wiederholt angestellten Reaktionen mit ein- und demselben Stamm kommen geringfügige Schwankungen sowohl hinsichtlich der Agglutinationsbreite als auch des Agglutinationsoptimums vor.

3) Die Virulenz hat anscheinend einen Einfluß auf die Agglutinabilität. Mit der Virulenzsteigerung nahm in einem Falle die Ausflockbarkeit zu.

4) Das Agglutinationsoptimum beschränkt sich nicht auf ein Röhrchen, sondern erstreckt sich im allgemeinen über 4—5 Röhrchen mit einer p_H = $3{,}5 \cdot 10^{-5}$ bis $5{,}5 \cdot 10^{-4}$.

5) Eine Unterscheidung zwischen Influenza- und sogenannten Koch-Weeks-Bazillen war bisher nicht möglich, da das Agglutinationsoptimum bei derselben Wasserstoffionenkonzentration lag. Aber es muß darauf hingewiesen werden, daß die zur Verfügung stehenden Koch-Weeks-Kulturen auf Aszitesagar nicht wachsen und daher nach der üblichen Nomenklatur eher in die Gruppe der echten Pfeiffer-Bazillen zu gehören scheinen. Weitere Untersuchungen an typischen Epidemiestämmen sind daher nötig.

6) Die Säureausflockung der Keuchhustenbazillen weist einen fast gleichen Agglutinationsgrad bei verschiedenen H-Ionenkonzentrationen auf.

7. Bac. Cohen und Bac. canis werden durch Säure ähnlich agglutiniert wie die echten Pfeiffer-Bazillen.

8) Die bereits durch Säure ausgeflockten Bakterien lassen sich nach Entfernung der Säure durch Waschen mit physiol. Kochsalzlösung wieder mit Säure sowie mit Immunserum ausflocken.

Literaturverzeichnis.

Michaelis, Dtsch. med. Wochenschr. 1911. S. 969. — Schidorsky und Reim, Ebenda. 1912. S. 1125. — Michaelis, Ebenda. 1915. S. 243. — Ders., Ebenda. 1917. S. 1506. — Benjasch, Ztschr. f. Immunitätsf. Bd. 12. 1912. S. 268. — Poppe, Ebenda. Bd. 13. 1912. S. 185. — Heimann, Ebenda. Bd. 16. 1913. S. 127. — Krumwiede und Pratt, Ebenda. Bd. 16. 1913. S. 517. — Arkwright, Ebenda. Bd. 22. 1914. S. 396. — Michaelis und Adler, Ebenda. Bd. 23. 1914. S. 327. — Gieszczykiewicz, Ebenda. Bd. 24. 1916. S. 482. — Putter und Zorn, Ebenda. Bd. 39. 1924. S. 469. — Rost, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 60. 1911. S. 324. — Stepanoff-Grigorjeff, Ebenda. Abt. I. Ref. Bd. 54. 1912. S. 602. — Grote, Ebenda. Abt. I. Orig. Bd. 69. 1913. S. 98. — Ders., Ebenda. Bd. 73. 1914. S. 202. — Markl, Ebenda. Bd. 77. 1915. S. 102. — Nagel, Ebenda. Abt. I. Ref. Bd. 63. 1915. S. 291. — Eisenberg, Ebenda. Abt. I. Orig. Bd. 83. 1919. S. 70, 472, 561. — Bach, Ebenda. Bd. 84. 1920. S. 265. — Bien, Ebenda. Bd. 88. 1922. S. 177. — Neuwirth, Ebenda. Abt. I. Ref. Bd. 83. 1926. S. 206. — Beintker, Klin. Jahrb. Bd. 26. 1912. S. 383. — Stepanoff-Grigorjeff, Wien. klin. Wochenschrift. 1912. S. 817. — Jaffe, Arch. f. Hyg. Bd. 76. 1912. S. 1. — Sgalitzer, Ztschr. f. Hyg. Bd. 76. 1913. S. 209.

Lebenslauf.

Am 20. Juli 1903 wurde ich, Bernhard Fischer, als Sohn des Oberinspektors Berthold Fischer zu Alt-Jauer in Schlesien geboren. Ich bin preußischer Staatsangehöriger. Ich besuchte das humanistische Gymnasium zu Jauer, wo ich Ostern 1922 die Reifeprüfung bestand. Nach fünfsemestrigem vorklinischen Studium in Breslau bestand ich dort im Sommer 1924 die ärztliche Vorprüfung.

Nach klinischem Vorstudium in Breslau und Freiburg i. B. beendete ich am 27. Juli 1927 in Breslau mein medizinisches Staatsexamen.

Darauf war ich vom 1. September 1927 bis 15. Januar 1928 als Medizinalpraktikant an der Medizinischen Universitäts-Poliklinik in Breslau tätig.

Frommannsche Buchdruckerei (Hermann Pohle) in Jena.